

## CRYPTOPHYCEAE DE CHILE. I. MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO DE ALGUNAS CRYPTOPHYCEAE DE LAGUNA GRANDE SAN PEDRO

### *CRYPTOPHYCEAE OF CHILE. I. SCANNING ELECTRON MICROSCOPY OF SOME CRYPTOPHYCEAE OF LAGUNA GRANDE SAN PEDRO*

Silvia Basualto\*

#### RESUMEN

Se utilizó la microscopía electrónica de barrido para una observación más detallada del periplasto y surco apical, caracteres taxonómicos importantes en la identificación de las especies de Cryptophyceae.

El uso de esta metodología permitió identificar las especies de los géneros *Rhodomonas*, *Cryptomonas* y *Pseudocryptomonas* presentes en Laguna Grande de San Pedro. Este trabajo preliminar revela el potencial de la microscopía electrónica de barrido en estudios de taxonomía algal y limnología.

#### INTRODUCCION

Es extremadamente común la presencia de microflagelados en las comunidades fitoplanctónicas dulceacuícolas y marinas (Stewart & Wetzel, 1986). Miembros importantes de este complejo grupo son comúnmente asignados a las Cryptophyceae, formas planctónicas pequeñas a las que se está dedican-

#### ABSTRACT

Scanning electron microscopy techniques were used for the recognition of the relevant morphological features for species identification, periplast and apical depression of the cells. Species of the genera *Rhodomonas*, *Cryptomonas* and *Pseudocryptomonas* were recognized as present in Laguna Grande de San Pedro.

Scanning electron microscopic studies have proved to be very useful for species identification in this group, and are considered a previous step for quantitative analysis and biomass estimates of each taxon.

**KEYWORDS:** Cryptophyceae, Scanning electron microscopy, taxonomy.

do cada vez mayor atención debido al importante rol que desempeñan en las cadenas tróficas (Craig, 1984).

La taxonomía de este grupo es difícil, principalmente por su tamaño reducido (2 - 50  $\mu\text{m}$ ), ya que no siempre son identificables por microscopía fotónica. Además existe gran desconocimiento de las criptófitas de aguas sudamericanas, ya que las claves taxonómicas actualmente en uso están basadas en especies de origen europeo, y por lo tanto no cubren algunas de las especies encontradas en nuestras aguas. En pequeños organismos de forma y tamaño similar, la presencia o ausencia de estructu-

\* Centro EULA, Universidad de Concepción, Casilla 156-C, Concepción, Chile

ras diagnósticas como el surco apical, y la forma de las placas del periplasto, es difícil de establecer.

Debido a la persistente presencia de criptófitas en el amplio espectro de los diferentes tipos de lagos eutróficos, mesotróficos, oligotróficos y la dificultad de la identificación taxonómica, en este estudio se realizó una comparación, usando microscopio fotónico y microscopio electrónico de barrido, de las diferencias y similitudes morfológicas de criptófitas de Laguna Grande de San Pedro.

## MATERIALES Y METODOS

Las observaciones están basadas sobre algas preservadas en solución de Lugol, que generalmente es usado como fijador y medio de almacenamiento en investigaciones ficológicas (Santore, 1982).

### Microscopio óptico:

Se tomaron muestras con una red de 35  $\mu\text{m}$  de trama y además se sedimentaron muestras a partir de la botella Ruttner en cámaras de 10 cc, para observar aquellos organismos menores de 35  $\mu\text{m}$  al microscopio invertido. Se utilizó un microscopio Carl Zeiss equipado con cámara clara y equipo para microfotografía.

### Microscopio electrónico de barrido:

En cámaras de 100 cc se sedimentaron muestras para concentrar el fitoplancton, las que fueron prefijadas con glutaraldehído 0,1% en tampón cacodilato de sodio 0,1M a un pH 7 por 1 hora para prevenir la descarga excesiva de los eyectosomas. Esto fue seguido por una fijación con glutaraldehído 2,5% por 2 horas, luego se efectuó el lavado del material con el tampón y se postfijó en una solución de tetróxido de osmio al 1% en tampón cacodilato de sodio 0,2M, pH 7 por 1 hora.

La deshidratación fue llevada a cabo a través de gradaciones crecientes de etanol y reemplazadas en series de acetona para ser secada a punto crítico en un aparato BALZERS UNION FL-9496. Después los especímenes fueron llevados a un metalizador EDWARDS 5150 SPUTTER COATER para ser cubiertos con una capa de oro de 300 a 350 Å de espesor. La muestra fue observada en un microscopio electrónico de barrido marca ETEC AUTOSCAN a 20 kw (Anderson, 1951).

## RESULTADOS

Los caracteres morfológicos de tres flagelados criptofíceos observados en el microscopio fotónico se muestran en las Figuras 1, 2 y 3. La mayoría de los fitoflagelados estudiados son de pequeño tamaño (9 - 30  $\mu\text{m}$ ), por lo tanto, algunas especies se observan muy similares en cuanto a su forma y tamaño.



Fig. 1: *R. lacustris* mostrando su morfología a través del microscopio óptico. Esta fotografía no revela detalles en la superficie de la célula.



Fig. 2: *Cryptomonas ovata* mostrando su morfología a través del microscopio óptico. Esta fotografía no revela detalles en la morfología del periplasto y surco apical.



Fig. 3: *Pseudocryptomonas parrae* mostrando su morfología al microscopio óptico. Esta fotografía revela sólo detalles de los cloroplastos, pero no del periplasto y surco apical.



Fig. 4: *R. lacustris* al microscopio electrónico de barrido para mostrar detalles de la superficie y surco apical.

Las Figuras 2 y 3 muestran dos células de tamaño similar y forma ovalada, y de acuerdo a las claves taxonómicas podrían ser clasificadas como una misma especie. Sin embargo, mediante la microscopía electrónica de barrido se puede observar que una de ellas tiene una superficie irregular y un surco más largo con un estoma (Fig. 8) y la otra con una superficie más lisa y un surco de longitud menor (Fig. 7).

*Rhodomonas lacustris* (Pascher et Ruttner) Javornicky (Fig. 1) es uno de los fitoflagelados criptofíceos más pequeños (9 μm), por lo tanto su observación al microscopio fotónico es insuficiente para distinguir caracteres de su morfología celular que son importantes en su determinación. Al microscopio electrónico de barrido, *R. lacustris* (Figs. 4 a la 6) aparece como una célula de simetría

bilateral, en su parte apical existe una excavación amplia (Fig. 4) que corresponde al surco, donde los flagelos están insertos lateralmente (Fig. 6). La superficie celular está cubierta de placas hexagonales (Fig. 5) dispuestas en forma regular. El extremo posterior de la célula (Fig. 4) no está cubierto por placas y mide aproximadamente 1 μm, tiene forma de triángulo equilátero curvado levemente hacia el lado ventral.

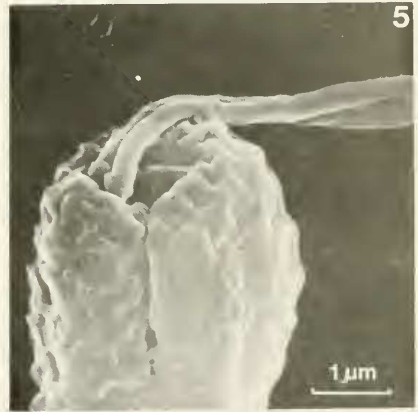


Fig. 5: *R. lacustris* en un acercamiento para mostrar detalles del surco y flagelos.



Fig. 6: *R. lacustris* mostrando la inserción lateral de los flagelos.

*Cryptomonas ovata* Ehrenberg mide aproximadamente 27  $\mu\text{m}$ , al microscopio electrónico de barrido aparece con un surco (Fig. 7) que abarca las 1/3 partes de la célula, se distinguen claramente las hileras de tricocistos (Fig. 7) en la parte interna del surco y en la superficie celular no se distinguen placas como en *Rhodomonas*, sino más bien algunos poros de tricocistos.



Fig. 7: *C. ovata* mostrando detalles del surco y superficie celular.

*Pseudocryptomonas parrae* Bícudo et Tell posee un surco más complejo que abarca las 3/4 partes de la célula, en cuyo centro se encuentra un orificio que permanece abierto y se denomina estoma (Fig. 8); la superficie celular se presenta rugosa (Fig. 9), debido probablemente a la presencia de tricocistos.

Basado en los caracteres mencionados anteriormente se confeccionó una clave taxonómica de dichas especies presentes en Laguna Grande de San Pedro al microscopio óptico y otra, al microscopio electrónico de barrido.



Fig. 8: *P. parrae* mostrando la superficie irregular del periplasto y un surco con estoma, demostrando grandes diferencias morfológicas con la fig. 7.

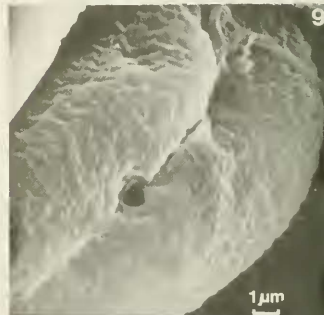


Fig. 9: *P. parrae* acercamiento del surco apical.

#### CLAVE PARA CRYPTOPHYCEAE DE LAGUNA GRANDE DE SAN PEDRO EN BASE A MICROSCOPIA ÓPTICA

1. Células con 1 ó 2 cloroplastos lobulados o parietales.
2. Surco ventral notorio con numerosas hileras de tricocistos. Células ovoides con el extremo posterior ampliamente redondeado; superficie ventral y dorsal convexa; flagelos de longitud similar al cuerpo celular. Largo de la célula entre 18 - 28  $\mu\text{m}$  y 10 - 20  $\mu\text{m}$  de ancho.....
2. Surco ventral poco notorio con 2 hileras de eycetosomas; con un cloroplasto dorsal de color rojo y con un gran pirenoide. En la parte posterior a menudo presenta un corpúsculo basal redondeado y resfringente. Células de 9 - 10,5  $\mu\text{m}$  de largo y 5 - 5,8  $\mu\text{m}$  de ancho....
1. Células con numerosos cloroplastos discoidales. Células de forma ovoide a elipsoidal. Tricocistos distribuidos en una sola hilera en la línea del surco ventral. Largo celular de 16,2 - 22,8  $\mu\text{m}$  y 7,6 - 12,4  $\mu\text{m}$  de ancho.....

*Cryptomonas ovata*

*Rhodomonas lacustris*

*Pseudocryptomonas parrae*

CLAVE PARA CRYPTOPHYCEAE DE LAGUNA GRANDE SAN PEDRO EN BASE AL MICROSCOPIO ELECTRONICO DE BARRIDO (3.000 a 8.000X)

1. Estructura del periplasto con placas hexagonales notorias. Extremo posterior notoriamente aguzado de aproximadamente 1  $\mu\text{m}$  de largo y sin ornamentación..... *Rhodomonas lacustris*
1. Estructura del periplasto de otra manera.
  2. Periplasto siempre granular o papilar. La longitud del surco abarca las 3/4 partes de la célula. La abertura del surco es mínima, no permite visualizar los tricocistos. Surco con estoma en la mitad de la célula..... *Pseudocryptomonas parrae*
  2. Periplasto más bien liso. La longitud del surco corresponde a 1/2 de la longitud celular. La abertura del surco permite a veces visualizar las hileras de tricocistos en el lado ventral derecho..... *Cryptomonas ovata*

DISCUSION Y CONCLUSIONES

La taxonomía de las Cryptophyceae al microscopio óptico está basada principalmente en la forma y tamaño celular; número, forma y posición de los cloroplastos; forma y tamaño del surco, es así como algunos autores (Anton & Duthie, 1981; Bicudo & Tell, 1988) han realizado algunas descripciones de nuevos géneros y especies dentro de la clase. Sin embargo, descripciones adecuadas de la estructura del periplasto requieren del microscopio electrónico de barrido con cuidadosos métodos preparativos y de secado a punto crítico (Anderson, 1951). Asimismo la naturaleza del surco es difícil de determinar por medio del microscopio óptico, aunque se han realizado varios intentos en taxonomía (Pascher, 1913; Butcher, 1967), pero con resultados poco satisfactorios. La microscopía electrónica ha demostrado que el surco es un sistema tubular, en cuya región se ubica una compleja banda de estructuras llamadas tricocistos, que posiblemente ayuden a soportar y mantener esta forma tubular (Santore, 1984). Los tricocistos también están presentes en el periplasto de la célula y se cree son los responsables de la superficie irregular de la célula (Lucas, 1970).

Actualmente, es difícil explicar el significado de estas variaciones estructurales y posiblemente sean el reflejo de la influencia del hábitat o tales variaciones pueden constituir caracteres que diferencien especies o variedades (Santore, 1984).

Estos resultados indican que las criptófitas manifiestan notables grados de similitud en tamaño

y forma, pero exhiben diferentes estructuras superficiales, demostrables sólo a través de la microscopía electrónica de barrido.

Detalles topográficos no pueden ser observados por microscopía óptica, por lo tanto la microscopía electrónica constituye una gran ayuda para facilitar la identificación de especies similares. Cabe destacar finalmente que aquellos caracteres posibles de visualizar al microscopio óptico, como por ejemplo: forma, número y tamaño de los flagelos y aquellos caracteres observables a través del microscopio electrónico, como la morfología del periplasto, estructura del surco y tricocistos, la estructura rizostilar de la raíz flagelar, etc., son criterios importantes a considerar en la identificación de las criptófitas, y por sí solos no son suficientes, pero en combinación ellos son bastante útiles para determinar y delimitar taxa.

AGRADECIMIENTOS

Desco agradecer a todo el personal que trabaja en el laboratorio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Concepción por las fotografías obtenidas en este estudio.

BIBLIOGRAFIA

- ANDERSON, T.F. 1951. Techniques for the preservation of three dimensional structure in preparing specimens for the electron microscope. Trans. N.Y. Acad. Sci., Series II, 13:130.

- ANTON, A. & DUTHIE, H.C. 1981. Use of cluster analysis the systematics of the algal genus *Cryptomonas*. Can. J. Bot. 59: 992 - 1002.
- BICUDO, C. & TELL, G. 1988. *Pseudocryptomonas*, a new genus of Cryptophyceae from southern Brazil. Nova Hedwigia 46: 407 - 411.
- BUTCHER, R.W. 1967. An introductory of the smaller algae of British coastal waters. Part IV: Cryptophyceae. Fishery Investigations HMSO, London.
- CRAIG, S. 1984. Productivity of algae picoplankton in a small meromictic lake. Verh. Internat. Verein. Limnol. 22: 351 - 354.
- LUCAS, I.A.N. 1970. Observation on the fine structure of the Cryptophyceae. I. The genus *Cryptomonas*. J. Phycol. 6: 30 - 38.
- PASCHER, A. 1913. Cryptomonadinae. In Süßwasserflora Deutschlands Österreichs und der Schweiz. Heft 2: 96 - 114.
- SANTORE, V. J. 1982. The ultrastructure of *Hemiselmis brunnescens*, and *Hemiselmis virescens* with additional observations on *Hemiselmis rufescens* and comments about the Hemiselmidaceae as natural group of the Cryptophyceae. Br. Phycol. J. 17: 81 - 99.
- SANTORE, V. J. 1984. Some aspects of taxonomy in the Cryptophyceae. New Phytol. 98: 627 - 646.
- SANTORE, V. J. 1985. A cytological survey of the genus *Cryptomonas* (Cryptophyceae) with comments on its taxonomy. Arch. Protistenk 130: 1 - 52.
- STEWART, A. J. & WETZEL, R. G. 1986. Cryptophytes and other microflagellates as couplers in planktonic community dynamics. Arch. Hydrobiol. 106: 1 - 19.
- UTERMÖHL, H. 1958. Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton Methodik. Mit. Int. Verein. Limnol. 9: 1 - 38.

*Fecha de publicación: 30 de Diciembre de 1992.*